

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ ТЕХНІЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ УКРАЇНИ
«КИЇВСЬКИЙ ПОЛІТЕХНІЧНИЙ ІНСТИТУТ імені ІГОРЯ СІКОРСЬКОГО»
Факультет біотехнології і біотехніки

ЗАТВЕРДЖУЮ

Декан факультету
біотехнології і біотехніки

_____ О.М.Дуган
« » червня 2017 р.

_____ **Основи генетичної та клітинної інженерії** _____

ПРОГРАМА

навчальної дисципліни

підготовки бакалавра

напряму підготовки (спеціальності) **6.051401 – Біотехнологія (162 – Біотехнології та біоінженерія)**

програм професійного спрямування (спеціалізацій) **6.05140101 – Промислова біотехнологія, 6.05140102 – Молекулярна біотехнологія, 6.05140105 – Екологічна біотехнологія та біоенергетика**

(шифр за ОПП 2.1.15)

Ухвалено методичною комісією
Факультету біотехнології і біотехніки
Протокол від 30. 06. 2017 р. № 11
Голова методичної комісії
_____ Галкін О.Ю.
« » червня 2016 р.

Київ – 2017

РОЗРОБНИКИ ПРОГРАМИ:

доцент, доцент, к.т.н. Клечак Інна Рішардівна

Програму затверджено на засіданні кафедри промислової біотехнології

Протокол від « 26 » червня 2017 року № 12

Завідувач кафедри

_____ Т.С.Тодосійчук

«26 » червня 2017 р.

© НТУУ «КПІ», 2017 рік

ВСТУП

Програму навчальної дисципліни ОСНОВИ ГЕНЕТИЧНОЇ ТА КЛІТИННОЇ ІНЖЕНЕРІЇ складено відповідно до освітньо-професійної програми підготовки бакалавра напряму підготовки (спеціальності) 6.051401 – Біотехнологія (162 – Біотехнології та біоінженерія)

Навчальна дисципліна належить до циклу професійної підготовки (дисципліни професійної та практичної підготовки за вибором студентів)

Предмет навчальної дисципліни - процеси створення нових високопродуктивних штамів мікроорганізмів, сортів рослин, порід тварин і нових технологій отримання БАР з застосуванням методологічних підходів генетичної та клітинної інженерії та нових об'єктів біотехнології – культивованих клітин та генетично модифікованих організмів.

Міждисциплінарні зв'язки: За своїм змістом дисципліна займає визначне місце в процесі підготовки фахівців з біотехнології і є продовженням дисципліни „Генетика”, що викладається в рамках бакалаврської підготовки студентів. Викладання дисципліни базується також на знаннях та навичках, отриманих студентами при вивченні навчальних дисциплін «Мікробіологія та вірусологія», «Загальна імунологія», «Біологія клітини», «Загальна біохімія», «Загальна біотехнологія», «Процеси і апарати біотехнологічних виробництв», «Методи аналізу біотехнологічних виробництв» та забезпечує викладання ряду дисциплін ОКР «бакалавр», «спеціаліст», «магістр» спеціальностей «Промислова біотехнологія» та «Молекулярна біотехнологія»: «Біоінформатика», «Генетична інженерія в біотехнології», «Медичні біотехнології», «Білкова інженерія», «Основи клітинних технологій в біології та медицині», «Проблемні питання сучасної біотехнології», «Системний аналіз молекулярних та надмолекулярних біологічних об'єктів», «Генетичні алгоритми», «Молекулярна біологія», «Молекулярні основи клонування».

1. Мета та завдання навчальної дисципліни

1.1. Мета навчальної дисципліни.

Метою навчальної дисципліни є формування у студентів здатностей:

- до практичної реалізації фундаментальних генетичних законів та молекулярних механізмів біологічних явищ для створення нових промислово важливих штамів мікроорганізмів, сортів рослин, порід тварин з використанням методів генетичного конструювання *in vivo*
- до практичної реалізації фундаментальних генетичних законів та молекулярних механізмів біологічних явищ для створення нових промислово важливих штамів мікроорганізмів, сортів рослин, порід тварин з використанням методів генетичного конструювання *in vitro*
- до практичної реалізації фундаментальних генетичних законів та молекулярних механізмів біологічних явищ для створення клітин рослин, з заданими властивостями.
- до практичної реалізації фундаментальних генетичних законів та молекулярних механізмів біологічних явищ для створення клітин тварин і людини з заданими властивостями.

1.2. Основні завдання навчальної дисципліни.

Згідно з вимогами освітньо-професійної програми студенти після засвоєння навчальної дисципліни мають продемонструвати такі результати навчання:

знання:

- традиційних методів отримання промислових штамів мікроорганізмів
- основних принципів, об'єктів та методологічних підходів клітинної інженерії
- можливостей використання досягнень клітинної біології для створення технологій, які дозволяють вирішувати важливі для господарської діяльності людини завдання
- основних методологічних підходів генетичної інженерії
- можливостей використання методів генетичної інженерії для створення нових промислово важливих штамів мікроорганізмів, сортів рослин та порід тварин
- основних напрямів використання генно-інженерних продуктів, їх переваг та недоліків.

уміння:

- оцінити можливості даного продуценту для подальшої селекційної роботи;
- отримувати нові штами мікроорганізмів за допомогою традиційних та генно-інженерних методів;
- підбирати та правильно застосувати на рослинних та тваринних клітинах методи клітинно-інженерної технології відповідно до поставленої кінцевої мети (отримання необхідного продуценту чи продукту);
- отримувати клітинні культури рослин та тварин і культивувати їх різними способами;
- працювати з науковою літературою;
- аналізувати результати експериментальних досліджень;
- планувати експериментальні дослідження в галузі генетичної та клітинної інженерії;

досвід: використання методів генетичного конструювання *in vivo* та *in vitro*, а також методів біотехнології рослинної та тваринної клітини для створення біологічних агентів з заданими властивостями та технологій отримання БАР з їх використанням

2. Структура навчальної дисципліни

На вивчення навчальної дисципліни відводиться 165 годин/ 5,5 кредитів ECTS.

Навчальна дисципліна містить 1 кредитний модуль

Рекомендований розподіл навчального часу

Форма навчання	Кредитні модулі	Всього		Семестрова атестація			
		кредитів	годин	Лекції	Лабораторні роботи (комп'ютерні)	СРС	Семестрова атестація
Денна	1	5,5	165	46	36	83	екзамен
Заочна	1	5,5	165	12	8	145	екзамен

3. Зміст навчальної дисципліни

РОЗДІЛ 1. ОСНОВИ ГЕНЕТИЧНОЇ ІНЖЕНЕРІЇ

Тема 1. Генетичне конструювання in vivo

Методи традиційної селекції та їх використання для створення високопродуктивних штамів мікроорганізмів. Використання природного добору, його переваги та недоліки. Штучний добір без використання мутагенів. Регуляція метаболізму в мікробній клітині: регуляція активності ферментів, амінокислотний контроль метаболізму та функції гуанозинтетрафосфату. Енергетичний стан клітини і регуляція метаболізму. Регуляція переносу речовин через мембрани.

Індукований мутагенез – основний метод отримання високопродуктивних штамів. Основні зміни в метаболізмі клітини, що має здатність до надпродукування. Класифікація мутагенів, що застосовуються в селекції, їх властивості та механізм дії. Методи відбору мутантів. Транспозоновий мутагенез.

Використання гібридизації для конструювання штамів мікроорганізмів з заданими властивостями. Гібридизація у еукаріотичних мікроорганізмів. Плазмиди і кон'югація у бактерій. Фаги і трансдукція. Одержання та злиття протопластів.

Тема 2. Генетичне конструювання in vitro

Методи генетичного конструювання in vitro. Історія виникнення генетичної інженерії. Основні етапи генно-інженерного досліджу.

Ферменти, що використовуються в генетичній інженерії. Рестриктази: визначення, класифікація, номенклатура. Методи фізичного та рестрикційного картування. Методи секвенування.

Основні методи отримання ДНК для клонування. Хіміко-ферментативний синтез: його переваги та недоліки. Використання рестриктаз для отримання необхідних для клонування фрагментів ДНК. Використання зворотної транскрипції для генетичного конструювання.

Вектори для клонування. Класифікація векторів та вимоги до них. Характеристика основних типів векторів. Вектори на основі плазмід бактерій. Вектори на основі бактеріофага λ . Косміди, фазміди. Вектори на основі бактеріофагів, що містять одноланцюгову ДНК (фаг M13). Вектори для еукаріотичних клітин. Вектори для рослинних і тваринних клітин. Напрями вдосконалення векторів.

Методи створення рекомбінантних молекул ДНК. Коннекторний метод, з'єднання за допомогою ДНК-лігази, використання лінкерів та адапторів. Методи збагачення реакційної суміші продуктами лігування.

Методи молекулярного клонування. Принципи вибору методів введення чужорідного генетичного матеріалу до клітини реципієнта. Ідентифікація клонів, що містять рекомбінантні молекули. Основні методи визначення місцезнаходження гена, що клонується. Гібридизація нуклеїнових кислот. Методи Нозерн-, Саузерн-блоттинга та Вестерн-блоттинга. Білкова інженерія, біоінформатика, протеоміка як перспективні напрями генетичної інженерії.

Експресія чужорідних генів у мікроорганізмах. Основні способи досягнення ефективності експресії генів: ампліфікація генів, досягнення високоефективної транскрипції, оптимізація трансляції чужорідних генів, стабілізація мРНК чужорідного гена; стабілізація чужорідних білків.

Характеристика основних промислових виробництв та продуцентів. Можливі шляхи використання методів генетичної інженерії у біотехнологічних виробництвах. Генетика та генетична

інженерія промислово важливих мікроорганізмів (бактерій, псевдомонад, дріжджів, актиноміцетів: генетична вивченість, плазмід, вектори, методи молекулярного клонування). Використання досягнень генетичної інженерії для розробки високоефективних біотехнологій.

РОЗДІЛ 2. ОСНОВИ КЛІТИННОЇ ІНЖЕНЕРІЇ.

Тема 1. Культивування клітин вищих рослин – перспективний метод біотехнології

Дедиференціація та калусогенез як основа створення клітинних культур. Завдання і проблеми клітинної інженерії. Історія розвитку метода культури клітин і органів. Поняття калусу та основні методи його одержання. Основні способи культивування клітин рослин. Культивування окремих клітин.

Клітинні технології в створенні генетичного різноманіття. Індукція і реалізація програми розвитку *in vitro* від клітини до рослини. Стабільність та варіабільність геномів рослинних клітин *in vitro*.

Технології *in vitro*, що прискорюють традиційний селекційний процес. Подолання постгамної та прогамної несумісності. Створення гаплоїдів та гомозиготних дигаплоїдних ліній методами *in vitro*, збереження *in vitro* генофонду. Клональне мікророзмноження та оздоровлення рослин. Соматична мінливість та клітинна селекція. Створення штучних асоціацій культивованих клітин вищих рослин з мікроорганізмами та ізольованими протопластами рослин і популяціями культивованих клітин рослин.

Соматична гібридизація як метод біотехнології рослин. Отримання і культивування протопластів. Основні етапи отримання протопластів, поживні середовища та способи культивування. Регенерація клітин, клітинних культур і рослин з протопластів. Злиття протопластів та парасексуальна гібридизація вищих рослин.

Тема 2. Застосування клітинних культур у біотехнології та вірусології.

Основні напрямки розвитку біотехнології тваринної клітини. Історія використання методу культури клітин тварин та людини. Поняття про групи культур тканин. Сфери застосування культур тканин тварин та людини. Основні поживні середовища для культивування. Методи і апаратура для культивування клітин тварин.

Виникнення та розвиток гібридомної техніки. Моноклональні антитіла – результат реалізації гібридомної технології. Основні етапи одержання моноклональних антитіл. Одержання лейкоцитарного інтерферона як приклад класичної біотехнології культивування тваринних клітин.

Трансплантація ембріонів і клітинна інженерія. Технологія трансплантації ембріонів. Мікроманіпуляція з ембріонами домашніх тварин (отримання однойцевих близнюків, міжвидові пересадки ембріонів та отримання химерних тварин). Запліднення тварин *in vitro*, культивування *in vitro* ембріонів сільськогосподарських тварин.

4. Рекомендований перелік лабораторних робіт

Лабораторні роботи, передбачені при вивченні дисципліни, призначені для формування у студентів навичок експериментальної роботи з об'єктами промислової мікробіології, оволодіння методами традиційної селекції, основними методологічними підходами генетичної інженерії та типовими методиками клітинної біотехнології. Метою лабораторних робіт є формування ряду умінь: оцінювати можливості даного продуценту для подальшої селекційної роботи; отримувати нові штами мікроорганізмів за допомогою традиційних та генно-інженерних методів; підбирати та правильно

застосувати на рослинних та тваринних клітинах методи клітинно-інженерної технології відповідно до поставленої кінцевої мети (отримання необхідного продуценту чи продукту); отримувати клітинні культури рослин та тварин і культивувати їх різними способами.

РОЗДІЛ 1. ОСНОВИ ГЕНЕТИЧНОЇ ІНЖЕНЕРІЇ

Лабораторна робота 1: Використання індукованого мутагенезу для створення нових високопродуктивних штамів мікроорганізмів з використанням фізичних та хімічних мутагенів.

Лабораторна робота 2: Використання гібридизації для створення штамів з новими властивостями.

Лабораторна робота 3: Аналіз штамів, отриманих в результаті генетичного конструювання *in vivo* (тест на синтрофізм, аналіз наявності та послідовності генетичних блоків, аналіз стабільності мутацій).

Лабораторна робота 4: Виділення хромосомної і плазмідної ДНК із мікроорганізмів.

Лабораторна робота 5: Рестрикційний аналіз.

РОЗДІЛ 2. ОСНОВИ КЛІТИННОЇ ІНЖЕНЕРІЇ

Лабораторна робота 6: Отримання протопластів та дослідження їх цитоморфологічних характеристик.

Лабораторна робота 7: Вивчення цитоморфологічних та фізіологічних характеристик калусних клітин, що культивуються поверхневим способом.

Лабораторна робота 8: Отримання первинних культур клітин.

Лабораторна робота 9: Отримання перещеплювальних культур клітин.

Лабораторна робота 10: Дослідження ЦПЕ та ЦПД вірусів, що культивуються в тваринних клітинах

5. Рекомендовані індивідуальні завдання

Індивідуальні завдання призначені для засвоєння студентами теоретичного матеріалу та формування у них умінь роботи з науковою літературою та аналізу результатів експерименту, а також формування досвіду використання методів генетичного конструювання *in vivo* та *in vitro* та методів біотехнології рослинної та тваринної клітини для створення біологічних агентів з заданими властивостями та технологій отримання БАР з їх використанням. При вивченні дисципліни пропонуються домашня контрольна робота, яка включає вирішення прикладних завдань за темами «Генетичне конструювання *in vivo*» та «Генетичне конструювання *in vitro*». Конкретні варіанти завдань наведено в додатках до Робочої навчальної програми.

6. Рекомендована література

Основна література

1. Айала Ф., Кайгер Дж. Современная генетика, т.1.-М, 1988.
2. Альбертс Б., Брей Д., Льюис Дж., Рефф М., Робертс К., Уотсон Дж. Молекулярная биология клетки, т.1.-Мир, 1994.
3. Биотехнология. Учебное пособие для вузов. В 8 кн./Под ред. Н.С.Егорова, В.Д. Самуилова. Кн. 1,2,3.-М.:Высшая школа,1987.
4. Глеба Ю.Ю., Сытник К.М., Клеточная инженерия растений.- Киев: Наукова думка, 1984.
5. Глик Б., Пастернак Дж. Молекулярная биотехнология. Принципы и применение. – М.: Мир, - 2002.- 589 с.
6. Елинов Н.П. Основы биотехнологии. –М.:Наука. - 1995. – 600с.
7. Культура животных клеток. Методы.-М.:Мир,1989.
8. Мельничук М.Д., Новак Т.В., Левенко Б.О. Основы біотехнології рослин. – К.: - 2000. – 230с.
9. Мельничук М.Д., Новак Т.В., Кунах В.А. Біотехнологія рослин: –К.: ПоліграфКонсалтинг. – 2003. –520с.
10. Посібник з медичної вірусології / В.М.Гирін, В.Г.Порохницький, С.Г.Вороненко та ін. – К.:Здоров'я, - 1995. –368с.
11. Промышленная микробиология. Учебное пособие для вузов / Под ред. Н.С.Егорова. -М.: Высшая школа, 1989.
12. Сергеев В.А., Собко Ю.А. Культуры клеток в ветеринарии и биотехнологии. – К.:Урожай
13. Сингер М., Берг П. Гены и геномы / в 2-х т., т.1. – М.: Мир, - 1998.
14. Уотсон Дж., Туз Дж., Курц Д. Рекомбинантные ДНК. - М.: Мир, - 1986.

Додаткова література

1. Бейли Дж., Оллис Д. Основы биохимической инженерии, т.1.-М. : Мир, 1989.
2. Бутенко Р.Г. Экспериментальный морфогенез и дифференциация в культуре клеток растений.- М.:Наука, 1975.
3. Бутенко Р.Г. Гибридизация соматических клеток. Молекулярные механизмы генетических процессов.-М.:Наука, 1982.
4. Генетика промышленных микроорганизмов и биотехнология.-М.: Наука, 1990.
5. Глазер В.М., Каменева С.В., Митронова Т.Н. Большой практикум по генетике микроорганизмов. : Изд-во МГУ, 1977.
6. Глеба Ю.Ю., Сытник К.М. Слияние протопластов и генетическое конструирование высших растений.-Киев:Наукова думка, 1982.
7. Клонирование ДНК. Методы / Под ред. Д. Гловера.- М.:Мир, 1988.

8. Культура клеток растений и биотехнология.-М.:Наука, 1986.
9. Методы общей бактериологии / Под ред. Герхарда.-М. : Мир, 1984.
10. Моноклональные антитела // Гибридомы: новый уровень биологического анализа /Под ред. Р.Г. Кеннета, Т.Дж. Мак-Керна, К.Б. Бехтол.-М.:Медицина, 1983.
11. Промышленная микробиология и успехи генетической инженерии.- М. : Мир, 1984.
12. Рингерц Н., Севидж Р. Гибридные клетки. -М.: Мир, 1975.
13. Сидоров В.А. Биотехнология растений. Клеточная селекция. -Киев: Наукова думка, 1990.
14. Фаустов С.В., Коровкин В.И., Попов В.Г. Быстров М.В. Методы и аппаратура для культивирования клеток. Обзорная информация.- Москва, 1986.

7. Засоби діагностики успішності навчання

У відповідності до робочого навчального плану як семестровий контроль за дисципліною передбачено екзамен. Екзаменаційна оцінка складає 50 % від загального рейтингу з дисципліни. Екзаменаційний білет складається з 3 теоретичних питань та 4 практичних завдань. Перше та друге питання білету - зі змістовного модулю «Основи генетичної інженерії»: перше питання екзаменаційного білету – із теми «Генетичне конструювання *in vivo*», друге питання – із теми «Генетичне конструювання *in vitro*», третє питання – із змістовного модуля «Основи клітинної інженерії».

Практичні завдання, які є невід'ємною складовою екзаменаційного оцінювання, належать до змістовного модуля «Генетичне конструювання *in vitro*». Основні теми екзаменаційних завдань: генні мутації, отримання рекомбінантних ДНК, поліморфізм довжини рестрикційних фрагментів, рестрикційні карти, секвенування, фінгерпринти, ПЦР, клонування в плазмідах та бактеріофагах.

Критерії оцінювання, структура та зразки екзаменаційних білетів наведені у додатках до робочої навчальної програми дисципліни «Основи генетичної та клітинної інженерії».

8. Методичні рекомендації

Дисципліна «Основи генетичної та клітинної інженерії» складається з 2-х змістовних модулів: «Основи генетичної інженерії» та «Основи клітинної інженерії».

Вивчення дисципліни передбачає окрім лекцій, проведення лабораторних занять, виконання індивідуальних завдань та завдань для самостійної роботи студентів.

Лабораторні роботи обов'язково включають знайомство з основними методами генетичного конструювання *in vivo*. Виконання лабораторних робіт по генетичному конструюванню *in vitro* визначається кількістю аудиторних годин на їх проведення, оснащенням лабораторії відповідним обладнанням і може варіюватись в залежності від специфіки певних спеціальностей та спеціалізацій. Лабораторні роботи по клітинній інженерії обов'язково повинні включати методи отримання калусних культур рослин, мікроклонального розмноження, соматичної гібридизації, а також методи отримання первинних та перещеплюваних культур тваринних клітин.

Окрім вирішення практичних завдань, на лабораторних заняттях також проводять модульні контрольні роботи (за кожним змістовним модулем). Модульні контрольні роботи складаються з теоретичних питань (в т.ч. тестових завдань) та задач. Приклади МКР наведено в додатках до Робочої навчальної програми.

Навчальним планом проведення практичних занять не передбачено, проте при збільшенні аудиторних годин доцільним було б їх введення. Мета проведення практичних занять – формування у студентів умінь роботи з науковою літературою, аналізу результатів експериментальних досліджень, планування досліджень в галузі генетичної та клітинної інженерії з використанням основних методів генетичної та клітинної інженерії (рестрикційного аналізу, побудови рестрикційних карт, методи секвенування, фінгерпринти).

Проте, якщо нема можливості проведення лабораторних робіт за темою генетичне конструювання *in vitro*, їх можна замінити практичними заняттями, на яких студенти на конкретних прикладах отримають можливість правильно інтерпретувати отримані експериментальні результати та планувати подальші експериментальні дослідження з використанням сучасних методів генетичної та клітинної інженерії для вирішення конкретних завдань біотехнології.

Як індивідуальні завдання студентам пропонується виконання домашньої контрольної роботи за змістовним модулем «Основи генетичної інженерії», а також вивчення окремих тем курсу самостійно, підготовка до модульних контрольних робіт та лабораторних занять. Зразки завдань домашньої контрольної роботи наведені в додатку до Робочої навчальної програми.

При вивченні дисципліни необхідно використовувати відповідні методичні вказівки для лабораторних занять, до виконання індивідуальних завдань та до самостійної роботи студентів з даної дисципліни.

Особливості робочих навчальних програм, що складаються для різних спеціальностей та форм навчання, визначаються значенням дисципліни у підготовці фахівців даної спеціальності та часом, що відводиться в навчальних планах на її вивчення. Окремі розділи можуть бути розширені чи скорочені в залежності від потреб даної спеціальності чи спеціалізації. Може бути змінена також тематика індивідуальної роботи студентів в залежності від специфіки підготовки фахівців, введені при необхідності розрахункові роботи, домашні роботи, реферати, тощо, а також перерозподілений матеріал, що виноситься на лабораторні заняття.

Лекції проводяться з використанням ілюстративного матеріалу (мультимедійні презентації). Доцільно також використовувати новітні навчальні технології, зокрема освітню програму з генетики “Roche Genetics”.

При складанні робочих навчальних програм для студентів заочної форми навчання необхідно більшу увагу приділити самостійній роботі, розробивши відповідні методичні вказівки для СРС та склавши контрольні роботи, тому кількість контрольних робіт для цієї форми навчання може бути збільшена, а також при можливості пропонується ввести у робочі навчальні плани практичні заняття, проведення яких дозволить сформувати навички у вирішенні практичних задач генетичної та клітинної інженерії.

Оцінювання рівня знань з дисципліни для студентів денної форми навчання пропонується проводити за рейтинговою системою, умови якої наводяться в положенні про РСО з дисципліни в робочій навчальній програмі.